两株耐寒 PGPB 的分离及其对藏北当地牧草生长的影响

何敏, 王秀璞, 李彦, 戴志聪, 王从彦, 杜海, 杜道林*

（江苏大学环境生态研究所，环境与安全工程学院/环境健康与生态安全研究院，江苏 镇江 212013）

摘要：本研究旨在从青藏高原北部退化草原的土壤中分离筛选可以促进当地典型牧草生长的促生菌株以促进藏北植被修复。通过采用稀释涂平板的方法分离耐低温植物促生菌株，并结合盆栽实验设计，评估分离细菌对当地牧草生长的影响。该研究从西藏土壤中成功筛选得到 2 株耐低温细菌，TS22 和 TS27，经 16S rRNA 基因鉴定分别属于 *Brevibacterium* sp.和 *Bacillus mycoides*。离体评估两株分离菌的植物促生属性结果表明，菌株 TS22 和 TS27 均具有 IAA、SID 的产生能力和 ACC-脱氨酶活性，TS22 具有较高的 ACC-脱氨酶活性（264.69 nmol·α-KB $mg^{-1}·h^{-1}$），TS27 显示出较强的产 IAA（7.52±3.85 $mg·L^{-1}$）和 SID（92%）能力。盆栽实验显示，在 10 ℃低温环境下，菌株 TS22 和 TS27 对早熟禾和老芒麦生长的影响因植物和菌种的不同而有所不同。菌株 TS22 在株高、根长、地上和地下干重方面显著促进了早熟禾的生长，且促生能力优于 TS27。该研究为植物-微生物技术在藏北高寒地区的植被恢复中的使用提供了很好的菌种资源和实践基础。

关键词：植物促生菌，低温环境，耐低温菌，植物促生属性，植物修复，草原退化

中图分类号：Q945　　　　**文献标识码：**A

Isolation of two cold-tolerant PGPB strains from northern Tibetan soil and the effect on the growth of local grass

HE Min, WANG Xiupu, LI Yan, DAI Zhicong, WANG Congyan, DU Hai, DU Daolin*

(*Institute of Environment and Ecology*, *Academy of Environmental Health and Ecological Security & School of the Environment and Safety Engineering*, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, Jiangsu, China)

Abstract: The objective of this study is to screen cold-tolerant plant growth promoting bacteria (PGPB) for local typical grass in Northern Tibetan Plateau. The serial dilution plating method was used to isolate the PGPB, and pot experiment was designed to evaluate the effect of isolated PGPB on the growth local grass. In total, two cold-tolerant PGPB strains named TS22 and TS27 were obtained, which were identified as *Brevibacterium* sp. and *Bacillus mycoides* respectively by 16S rRNA gene sequence analysis. Both two strains can produce IAA, SID and ACC-deaminase activity. Strain TS22 showed high ACC-deaminase activity (264.69 nmol·α-KB $mg^{-1}·h^{-1}$), TS27 displayed higher IAA (7.52±3.85 $mg·L^{-1}$) and SID (92%) production ability. Under low temperature (10 ℃), these two isolated PGPB exerted different effects on

---

基金项目：国家重点研究发展计划（2016YFC0502002）；国家自然科学基金（31770446，31700108）；江苏省高等学校重点学科发展计划；江苏省水处理技术与材料协同创新中心的资助[Supported by the National Key Research and Development Program of China (2016YFC0502002); the National Natural Science Foundation of China (31770446, 31700108); The Priority Academic Program Development of Jiangsu Higher Education Institutions (PAPD); The Jiangsu Collaborative Innovation Center of Technology and Material of Water Treatment]。

作者简介：何敏 （1994-），女，四川自贡人，硕士研究生，研究方向为微生物生态学， (E-mail)hwjfsh@163.com。

***通信作者：**杜道林，教授，研究员，博士研究生导师，主要从事生态学、环境安全与健康、环境微生物学、环境生物生态科学与工程、环境生物技术、植物学、环境资源开发利用等工作， (E-mail)daolindu@163.com。

the growth of *Poa annua* and *Elymus sibericus*. Inoculation of strain TS22 significantly improved the growth of *Poa annua* in plant height, root length, aboveground dry weight, underground dry weight, and showed greater plant growth promoting activity than strain TS27. This study provides valuable strain resources and experimental basis for application of plant-microbe technique in vegetation restoration in Northern Tibetan Plateau.

Key words: plant growth-promoting bacteria, low-temperature environment, low-temperature-tolerant bacteria, plant growth-promoting properties, plant phytoremediation, alpine grassland degradation

近年来，藏北高原地区由于过度放牧导致草地植被日益退化，已严重威胁当地生态的生物多样性、环境的健康质量、当地经济发展和人类生活质量水平。加强草地植被保护和修复受到越来越多的关注(Wang et al., 2019)。通过添加化肥、堆肥、高分子材料和腐殖酸等方法可以有效提高植被修复效率，但都因成本高难以实现大规模修复(Weyens et al., 2009; de-Bashan et al., 2012)。

PGPB 是一类可以直接或间接改善植物健康，促进植物生长的细菌(Bashan & Holguin, 1998)，可以通过固氮、产吲哚-3-乙酸（Indole-3-acetic acid, IAA）、铁载体（Siderophore, SID），产 ACC-脱氨酶活性（ACC-deaminase activity, ACC）和溶解不溶性磷酸盐等方式增加植物营养吸收，或者分泌抗生素等物质，保护植物免受病原菌入侵(Bashana et al., 2000; Mayak et al., 2004; Siddikee et al., 2010)。目前，PGPB 已被广泛应用于农业生产中，如从印度喜马拉雅山脉的苋菜（*Amarantus* sp.）根际分离出来的耐低温假单胞菌（*Pseudomonas* sp.），具有产 IAA、SID 以及溶解磷酸盐等植物促生（plant growth promoting, PGP）属性，使小麦幼苗的发芽率、株高和根长分别提高了 19.2%、30.0%和 22.9%(Mishra et al., 2009)。除此之外，PGPB 在生态环境修复领域也表现出巨大的潜力，尤其在特殊极端环境中的植被修复方面，例如，PGPB（*Azospirillum*）与仙人掌在墨西哥等地沙漠治理的作用效果得到前期研究的证实(Puente & Bashan, 1993; Bashan et al., 1999; Bacilio et al., 2006; Yoav et al., 2009)。接种 *Azospirillum* 的仙人掌种子可以在不加肥料的碎石中生长良好，而未接菌的植株则枯萎甚至死亡(Bashan & De-Bashan, 2010a)。采用 PGPB 可以改善土壤侵蚀区的植物健康和生长性能，增强其对干旱和盐碱等胁迫的耐受性，有助于脆弱生境原位植被再生，而无需额外添加化学肥料，降低了生物修复的成本。然而迄今为止，将 PGPB 应用于促进西藏高寒草原牧草生长、修复当地植被的研究鲜有报道。

鉴于藏北高寒脆弱的生境条件的特殊性和土著微生物的影响，外源添加 PGPB 作用效果会受到限制。本研究从采集的西藏土壤中分离、筛选土著耐低温 PGPB，并在室内模拟藏北低温条件，以藏北高原广泛分布的两种本地禾本科牧草早熟禾（*Poa annua*）和老芒麦（*Elymus sibericus*）为试验植物，对分离菌株的植物促生效果进行评价。

1 材料与方法

1.1 土壤样品采集

土壤样品采集于西藏那曲地区申扎县（88°37′—88°38′ E 、30°55′—30°56′ N），土壤类型以高寒草原土为主。采用 5 点混合取样方法，取样深度 0~10 cm，重复 3 次。清除采集的土壤样品中的砾石和植物残渣后，将土壤样本放入消毒密封的聚乙烯袋中，带回实验室，每份土壤样品称取 50 g，送样南京卡文思检测技术有限公司（Convinced-Test）进行土壤理化性质检测分析。其余土壤储存在 -20 ℃ 冰箱以便后续进行细菌分离。土壤样品的营养成分如表 1 所示。

表 1 土壤营养成分

Table 1 Characteristics of soil nutrient composition

项目 Project	单位 Unite	值 Content
总碳 Total C	%	1.96±0.058

总磷 Total P	$g\cdot kg^{-1}$	0.56±0.008
总氮 Total N	$g\cdot kg^{-1}$	2.02±0.027
速效氮 Available N	$mg\cdot kg^{-1}$	149.78±4.38
速效磷 Available P	$mg\cdot kg^{-1}$	7.06±0.55
速效钾 Available K	$mg\cdot kg^{-1}$	294.77±11.24
总盐 Total salt	$g\cdot kg^{-1}$	0.24±0.02
铁元素 Iron element	$g\cdot kg^{-1}$	22±0.67
干湿比 Dry wet ratio	%	0.99±0.0004

1.2 耐低温菌的分离鉴定

将 0.1 g 土样放入装有 1 mL 磷酸盐缓冲液的离心管中，250 $r\cdot min^{-1}$、25 ℃振荡 30 min，然后对悬浮液进行梯度稀释。取 100 μL 稀释后的悬浮液于 Luria-Bertani（LB）平板培养基涂布，置于低温环境（4 ℃）下培养，进行耐低温菌分离 (Reasoner & Geldreich, 1985)。培养 7 d 后，挑取单克隆，转移到新鲜 LB 琼脂培养基上进行纯化验证。收集分离纯化后的菌株，提取总 DNA，用细菌通用引物 27F（5′-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3′）和 1492R（5′-ACGGTACCTTGTACGACTT-3′）进行 16S rRNA 基因序列 PCR 扩增，所得 PCR 扩增产物经验证后送上海生工公司测序。测序所得序列与 EzBiocloud 数据库中的序列进行比对。利用 MEGA 6.06 中的邻位连接法，构建系统发育树。

1.3 PGPB 植物促生属性分析

对分离菌株的促生特性进行了评价。根据 Glickmann & Dessaux (1995)描述的方法，对分离菌株的产 IAA 能力检测。将菌株接种在含 L-色氨酸的 R_2A 培养基中。孵育 72 h 后，离心收集无菌上清液。用比色微板法测定培养上清液中 IAA 在 OD_{530} nm 吸光值，并绘制 IAA 的标准曲线以定量分析。

按照 Penrose & Glick (2002)提出的方法进行 ACC 脱氨酶活性的定量测定。细菌菌体在不含硫酸铵的 DF 培养基中培养 8 h，离心收集沉积的细菌细胞。然后将收集的细胞重新悬浮在添加 3.0 $mmol\cdot L^{-1}$ ACC 的 DF 培养基中。孵育 24 h 后，用比色法测定酶活性。

根据 Cherif-Silini et al. (2016)描述的方法定量测定 SID 的产量。在 King’B 培养基中培养 72 h 后，离心收集 500 μL 上清液，与 500 μL 铬天青 S 测定溶液混合。在 630 nm 波长处测定了混合物的吸光值。SID 的百分比按以下公式计算：$\frac{ST-Se}{ST}\times 100$，式中，ST 是深蓝的 CAS 溶液的吸光值（对照），Se 是从蓝色变为橙色的样品的溶液吸光值。

为检测菌株溶解不溶性磷酸盐的能力，将分离菌菌悬液分别点接于含有不溶性磷酸盐 $Ca_3(PO_4)_2$ 的 Pikovskay 琼脂平板的中心，置于 28 ℃培养箱（冯瑞章等，2005）。通过观察菌落周围有无透明圈，以及测量透明圈的大小，分析分离菌的溶解不溶性磷酸盐能力的有无及强弱。上述所有指标的测定均设置三个重复。

1.4 盆栽试验

先用 75%乙醇溶液浸泡 1 min 和 5% NaClO 溶液浸泡 5 min 对早熟禾和老芒麦的种子进行表面灭菌处理，经灭菌水清洗三次后，灭菌种子分别用 10 mL 浓度为 10^8 $cfu\cdot mL^{-1}$ 的菌悬液浸泡 2 h，对照处理用灭菌磷酸盐缓冲液。然后，将种子播种在装有 180 g 灭菌砂的培养瓶中，加入 54 mL 的 0.5 倍改良霍格兰溶液，并在温室（25 ℃）中培养。根据西藏土壤矿物盐组成（表 1）改良了 Hoagland 营养液，配方如下：94.5 $g\cdot L^{-1}$ $Ca(NO_3)_2$ $4H_2O$, 50.6 $g\cdot L^{-1}$ KNO_3, 8 $g\cdot L^{-1}$ NH_4NO_3, 0.00276 $g\cdot L^{-1}$ KH_2PO_4, 49.3 $g\cdot L^{-1}$ $MgSO_4$ $7H_2O$, 3.73 $g\cdot L^{-1}$ EDTA-2Na, 2.78 $g\cdot L^{-1}$ $FeSO_4$ $7H_2O$, 0.83 $mg\cdot L^{-1}$ KI, 22.3 $mg\cdot L^{-1}$ $MnSO_4$, 0.25 $mg\cdot L^{-1}$ Na_2MoO_4, 0.025 $mg\cdot L^{-1}$ $CoCl_2$, 6.2 $mg\cdot L^{-1}$ HBO_3, 8.6 $mg\cdot L^{-1}$ $ZnSO_4$ 和 0.025 $mg\cdot L^{-1}$ $CuSO_4$（pH 6.0）。种子萌发后，将幼苗移至低温（10 ℃）、光照强度为 10 000 lx（光暗=14 h/10 h）的条件下培养（本试验采用的栽培条件是依据青藏高原 6 月份的平均温度、日照强度和日照时数而确定）。每个处理设置 5 个重复。

培养 30 d 后，收获植株。测量植株的株高，根长，地上鲜重，地下鲜重，地上干重和地下干重。

1.5 数据分析

采用 IBM SPSS Statistics 20 统计软件进行统计分析，对记录的数据进行单因素方差分析和双因素方差分析，以 *P* 值的大小评价其显著性。所有图示均由 Origin 软件（2018 版）绘制。

2 结果与分析

2.1 耐低温细菌的分离鉴定

从西藏土壤中，最终成功分离得到 TS22 和 TS27 两株细菌。将所测得的分离菌株的 16S rRNA 基因序列与 EzBiocloud 数据库中的序列进行比对，确定菌株的分类学地位，构建系统发育进化树（图 1），菌株 TS22 与 *Brevibacterium frigoritolerans* DSM 8801 具有最高相似性 96%，因此初步鉴定其为 *Brevibacterium* 属的新种。菌株 TS27 与 *Bacillus mycoides* DSM 2048 具有最高相似性为 99%，因此该菌株分类为 *B. mycoides*。菌株 TS22 和 TS27 的 16S rRNA 基因序列均已提交 GenBank，获得登录号分别为 MN710445，MN710449。

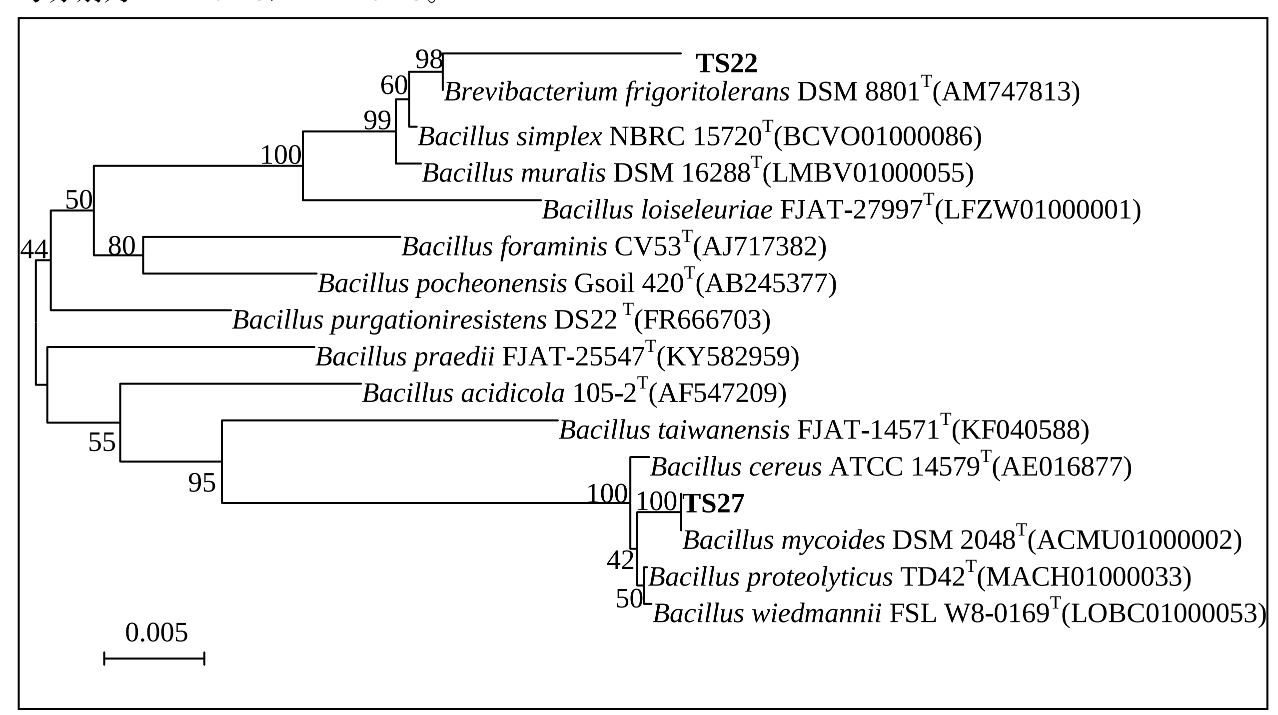


图 1 基于 16S rRNA 基因序列的系统发育树

Fig 1 Phylogenetic tree based on 16S rRNA gene sequences

2.2 分离菌株植物促生属性检测

对这两株细菌的植物促生属性进行了检测，包括产 IAA、溶解不溶性磷酸盐、产 SID 和 ACC 脱氨酶活性（表 2）。结果显示，菌株 TS22 具有极高的 ACC 脱氨酶活性（264.69 nmol·α-KB mg^{-1}·h^{-1}），是菌株 TS27 的 10 倍。TS22 和 TS27 均不具有溶磷能力，同时产 IAA 能力较低，分别为 3±0.31 mg·L^{-1} 和 7.52 ±3.85 mg·L^{-1}。菌株 TS22 和 TS27 具有较高的产 SID 能力，分别为 89.58±0.08%和 92.74±0.24%。

表 2 菌株 TS22 和 TS27 的植物促生属性

Table 2 Plant growth-promoting characteristics of strain TS22 and TS27

菌株 Strains	吲哚-3-乙酸 IAA (mg·L^{-1})	铁载体 SID (%)	ACC-脱氨酶 ACC (nmol·α-KB mg^{-1}·h^{-1})
Brevibacterium sp. TS22	3±0.31	89.58±0.0786	264.69±3.1572
Bacillus mycoides TS27	7.52±3.85	92.74±0.2426	26.35±6.4174

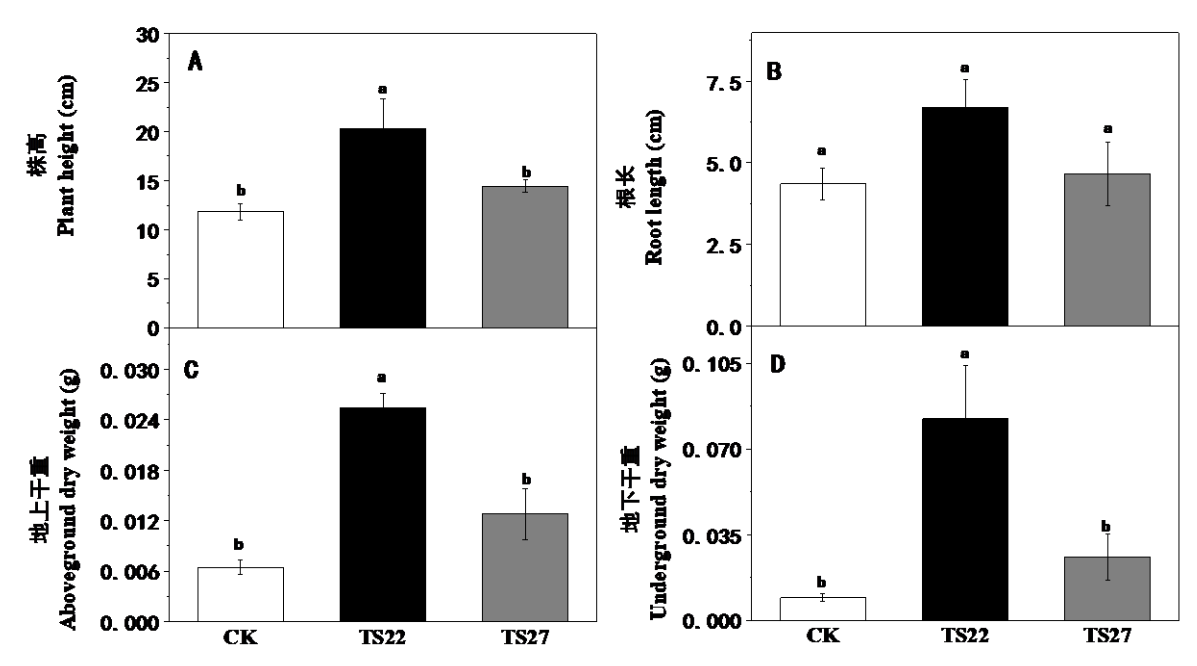
注：α-KB. α-酮丁酸。

Note：α-KB. α-ketobutyrate.

2.3 分离菌株对本地牧草生长的影响

如图 2、图 3 所示，接种菌株 TS22 和 TS27 对当地牧草早熟禾和老芒麦的生长影响各不相同。如图 2 所示，与不接种的对照组相比，接种 TS22 显著提高了一年生早熟禾的株高、根长、地上和地下部分干重。接种 TS27 的早熟禾株高、地上和地下部分干重与不接种对照组相比，分别增加了 20.7%、11.1%、89.4%和 74.2%，但在统计学上不具有显著差异。

如图 3 所示，接种 TS22 和 TS27 没有明显的促进作用，甚至轻微抑制作用。接种 TS22 使老芒麦地上和地下干重分别降低 1.4%和 5.4%。而接种 TS27 的处理显著缩短了 22%的根长。



A. 株高；**B.** 根长；**C.** 地上干重；**D.** 地下干重。根据接种后早熟禾的表观性状进行单因素方差分析，并对每个处理进行 Tukey 检验。误差条表示至少四个重复的平均值的标准偏差。条形上不同的字母表示有显著性差异（$P < 0.05$）。下同。

A. Plant height; **B.** Root length; **C.** Aboveground dry weight; **D.** Underground dry weight. One-way ANOVA analysis based on the apparent properties of Poa annua L. after the isolates inoculated, and Tukey test for each treatment. The error bars represent the standard deviation of the mean of at least four replicates. Different letters on the bar indicate significant differences ($P < 0.05$). The same below.

图 2 未接种和接种 *Brevibacterium* sp.TS22 和 *B. mycoides* TS27 的早熟禾的株高、根长、地上干重、地下干重

Fig.2 Plant Height, root length, aboveground dry weight, underground dry weight of *Poa annua* with/without *Brevibacterium* sp.TS22 and *B. mycoides* TS27 inoculation

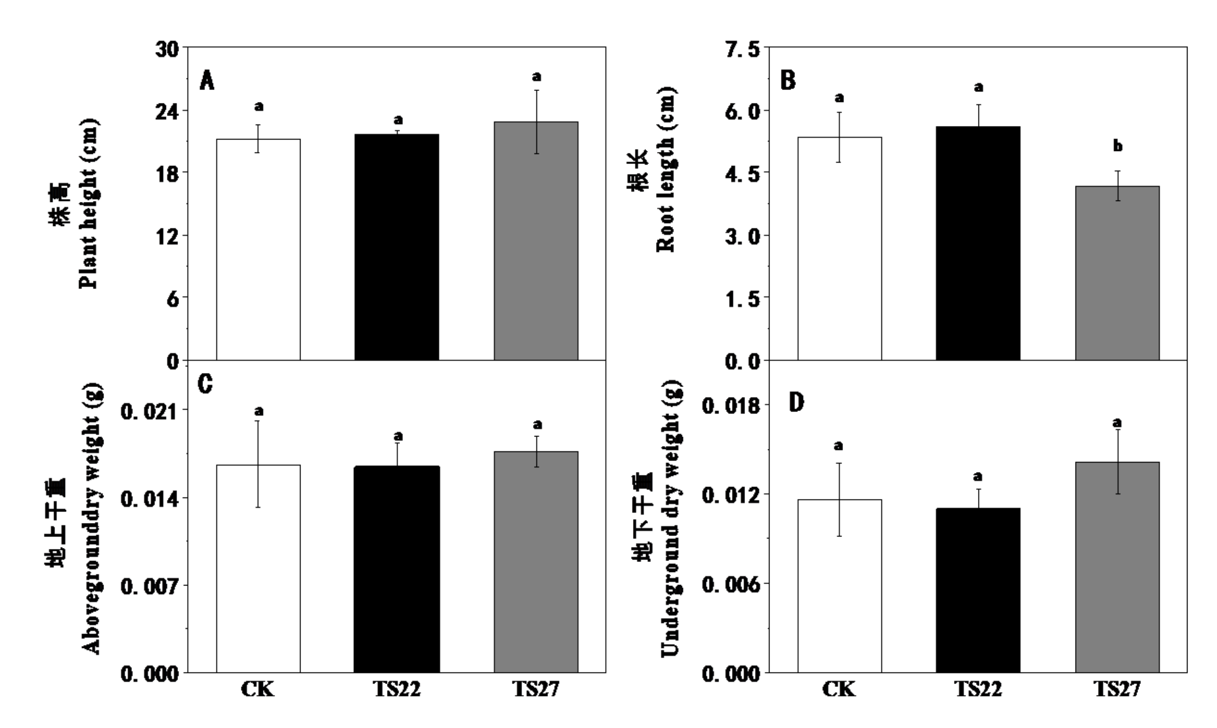


图 3 未接种或接种菌株 TS22 和 TS27 的老芒麦的株高、根长、地上干重、地下干重

Fig.3 Plant height, root length, aboveground dry weight, underground dry weight of *Elymus sibiricus* with/without strain TS22 and TS27 inoculation

2.4 分离菌株与植物生长属性的相关性分析

双因素方差分析结果表明，植物种类仅对地下鲜重、干重有显著影响，细菌种类对所有植物生长指标都有影响；植物和细菌交互协同作用，对植物生物量相关的指标有影响（表 3）。

表 3 植物种类（S）和细菌处理（B）与植物生长相关性的双因素方差分析

Table 3 Two-factor ANOVA analysis of the relationship between plant species (P) / bacteria species (B) treatment and the growth of plant

	植物种类(P)		细菌种类 (B)		植物×细菌种类(P×B)	
	F	*P*	*F*	*P*	*F*	*P*
地下鲜重 Underground FW	6.802	0.023	6.484	0.012	7.604	0.007
地上鲜重 Aboveground FW	3.792	0.075	12.573	0.001	10.964	0.002
地下干重 Underground DW	10.551	0.007	7.733	0.007	8.339	0.005
地上干重 Aboveground DW	1.800	0.205	14.447	0.001	15.997	＜0.001
干重 DW	1.280	0.280	7.529	0.008	8.359	0.005
根长 Root length	0.086	0.775	4.363	0.038	1.746	0.216
株高 Plant height	26.312	＜0.001	4.198	0.041	4.118	0.043

注：**DW**. Dry weight；**FW**. Fresh weight；$P < 0.05$ 表示显著差异。

Note：**DW**. Dry weight; **FW**. Fresh weight; $P < 0.05$ indicates a significant differences.

3 讨论与结论

在利用 PGPB 进行退化土壤植被再生修复的过程中，微生物菌剂的选择具有决定性作用。对于

条件苛刻的特殊生境，接种外源 PGPB 菌剂到特殊生境会受到来自生存环境巨大变化和本土微生物的竞争的双重挑战，从而限制了外源 PGPB 接种剂的存活及功能活性。选择土著 PGPB 作为接种剂，可以更好适应本土环境，有助于发挥预期效果(Schlaeppi et al., 2016)。

本研究针对藏北地区独特的地理环境和寒冷干燥的气候特征，从藏北土壤中分离到 2 株耐低温植物促生菌， *Brevibacterium* sp. TS22 和 *Bacillus mycoides* TS27。迄今为止，许多 *Bacillus* 属的细菌被发现具有植物促生功能(Santoyo et al., 2012)，但关于 *Brevibacterium* 属菌的植物促生功能鲜有报道。最近，Wang et al. (2016)从青藏高原细叶嵩草中分离筛选到 *Brevibacterium* 属的内生菌，该菌被检测发现具有多种植物促生特性，但该报道尚未对该分离菌进行进一步功能验证。 Meena et al. (2017)从库拉索芦荟根际中成功分离到一株具有多种植物促生属性的 *Brevibacterium frigoritolerans* SMA23，在 10 ℃低温下对小麦生长有积极影响。通过对分离菌产 IAA，SID，ACC-脱氨酶等植物促生性能的检测发现，两株分离菌株均可以产 IAA、SID 和 ACC-脱氨酶，并且 TS22 具有高效 ACC-脱氨酶活性（264.69 nmol·α-KB mg^{-1}·h^{-1}），TS27 具有更高的产 IAA（7.52±3.85 mg·L^{-1}）和 SID（92%）能力。 IAA 是一种常见的植物促生长激素， Gonita-Mishra et al. (2017)报道了 38 株分离菌，其中 89.47%的菌株能产生显著的 IAA（4.7~77.41 mg·L^{-1}）。作为一种高效的植物生长激素，较高的 IAA 产量能够引起幼苗的形态和生理变化(Masciarelli et al., 2013)。SID 在植物根系铁的生物有效性中起着重要作用(Sorty & Shaikh, 2015)。它与植物根际的铁具有很高的亲和力，能结合根际环境中大部分的有效铁，与此同时限制了根部病原微生物对有效铁的利用，起到了抑制病原菌增殖的效果(O'Gara, 1992)。细菌产 ACC-脱氨酶降低植物乙烯水平，缓解各类胁迫，是这些细菌发挥作用的关键组成成分，包括保护植物免受洪水、干旱、盐分、花卉枯萎、金属、有机污染物以及细菌和真菌病原体的侵袭(Glick, 2014)。本研究中分离到耐低温菌株 TS22 和 TS27 不但能适应青藏高原寒冷高海拔环境，且具有不同程度的植物促生潜力，为后续藏北高原植被再生提供了宝贵的菌种资源。

当把 TS22 和 TS27 接种到藏北本地牧草早熟禾和老芒麦植物根际时，菌株 TS22 对早熟禾植株表现出明显的生长促进作用，而对老芒麦的生长没有明显促进效应；菌株 TS27 则对两种禾草的促生作用均不明显。已有大量研究表明，并非所有具有 PGP 特性的细菌都能对植物的生长产生积极影响，菌—植互作的环境与寄主植物及菌剂的种类均会影响植物促生的效果(de-Bashan et al., 2012)。同时 PGPB 促进植物生长是一个复杂的过程，涉及到不同促生属性间的协同作用。Bashan & de-Bashan et al.(2010b)通过对兼有多种植物促生特性的 PGPB 菌株 *Azospirillum brasilense* 的作用机制的研究发现：*A. brasilense* 的作用机制并非单一，在一定环境条件下这些促生机制同时或相继运行。本研究的盆栽结果再次表明了植物生长效果因植物和细菌种类的不同而有差异（表 4）。菌株 TS22 所表现的多种促生属性间的协同模式可能更适合于早熟禾植株的生长。由此可见，对于不同植株选择恰当的 PGPB 很重要，应根据接种实验效果进行有目的地筛选，有关 PGPB—宿主植物相互作用的机制研究有待于进一步挖掘。

综上所述，本研究藏北高原特殊环境条件中分离筛选到可以有效促进当地牧草生长的低温植物促生菌，为后续植物-微生物技术在藏北高寒地区的植被修复应用中提供了宝贵的菌种资源和应用基础。

参考文献：

BACILIO M, HERNANDEZ J-P, BASHAN Y, 2006. Restoration of giant cardon cacti in barren desert soil amended with common compost and inoculated with *Azospirillum brasilense*[J]. Biol Fert Soils, 43(1): 112-119.

BASHAN Y, HOLGUIN G, 1998. Proposal for the division of plant growth-promoting rhizobacteria into two classifications: Biocontrol-PGPB (plant growth-promoting bacteria) and PGPB[J]. Soil Biol Biochem, 30(8): 1225-1228.

BASHAN Y, DE-BASHAN LE, 2010a. Soil biology and agriculture in the tropics: microbial populations of arid lands and their potential for restoration of deserts [M]. Dion P. Heidelberg, Berlin: Springer Berlin Heidelberg:109-137.

BASHAN Y, DE-BASHAN LE, 2010b. How the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum* promotes plant growth—A critical assessment[J]. Advan Agron, 108(10): 77-136.

BASHAN Y, ROJAS A, PUENTE ME, 1999. Improved establishment and development of three cactus species inoculated with *Azospirillum brasilense* transplanted into disturbed urban desert soil[J]. Can J Microbiol, 45(6): 441–451.

BASHANA Y, DAVISB EA, CARRILLO-GARCIAA A, et al., 2000. Assessment of VA mycorrhizal inoculum potential in relation to the establishment of cactus seedlings under mesquite nurse-trees in the Sonoran Desert[J]. Appl Soil Ecol, 14 (2): 165–175.

CHERIF-SILINI H, BOUDABOUS A, SILINI A, et al., 2016. Phylogenetic and plant-growth-promoting characteristics of *Bacillus* isolated from the wheat rhizosphere[J]. Ann Microbiol, 66(3): 1087-1097.

DE-BASHAN LE, HERNANDEZ J-P, BASHAN Y, 2012. The potential contribution of plant growth-promoting bacteria to reduce environmental degradation – A comprehensive evaluation[J]. Appl Soil Ecol, 61(2012): 171-189.

FENG R-Z, FENG Y-H, YAO T, et al., 2005. The screening of phosphobacteria and solubilizing phosphate ability in the rhizosphere of alfalfa and wheat[J]. J Gansu Agric Univ, 40(5): 604-608. [冯瑞章，冯月红，姚拓，等，2005. 春小麦和苜蓿根际溶磷菌筛选及其溶磷能力测定[J]. 甘肃农业大学学报，40(5): 604-608.]

GLICK BR, 2014. Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world[J]. Microbiol Res, 169(1): 30-39.

GLICKMANN E, DESSAUX Y, 1995. A critical examination of the specificity of the salkowski reagent for indolic compounds produced by phytopathogenic bacteria[J]. Appl Environ Microbiol, 61(2): 793-796.

GONITA-MISHRA I, SAPRE S, KACHARE S, et al., 2017. Molecular diversity of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase producing PGPR from wheat *Triticumaestivum* L. rhizosphere[J]. Plant Soil, 414(1-2): 213-227.

MASCIARELLI O, URBANI L, REINOSO H, et al., 2013. Alternative mechanism for the evaluation of indole-3-acetic acid (IAA) production by *Azospirillum brasilense* strains and its effects on the germination and growth of maize seedlings[J]. J Microbiol, 51(5): 590-597.

MAYAK S, TIROSH T, GLICK BR, 2004. Plant growth-promoting bacteria confer resistance in tomato plants to salt stress[J]. Plant Physiol Biochem, 42(6): 565-572.

MEENA, TARA N, SAHARAN BS, 2017. Plant growth promoting traits shown by bacteria *Brevibacterium frigrotolerans* SMA23 isolated from *Aloe vera* rhizosphere[J]. Agrie Sci Digest, 37(3): 226-231.

MISHRA PK, MISHRA S, BISHT SC, et al., 2009. Isolation, molecular characterization and growth-promotion activities of a cold tolerant bacterium *Pseudomonas* sp. NARs9 (MTCC9002) from the Indian Himalayas[J]. Biol Res, 42(3): 305-313.

O'GARA F, 1992. Traits of fluorescent *Pseudomonas* spp. involved in suppression of plant root pathogens[J]. Microbiol Rev, 56(4): 662-676.

PENROSE DM, GLICK BR, 2002. Methods for isolating and characterizing ACC deaminase-containing plant growth-promoting rhizobacteria[J]. Physiol Plant, 118(1): 10-15.

PUENTE M-E, BASHAN Y, 1993. Effect of inoculation with *Azospirillum brasilens* strains on the germination and seedlings growth of the giant columnar cardon cactus (*Pachycereus pringlei*)[J]. Symbiosis, 15 (1993): 49-60.

REASONER DJ, GELDREICH EE, 1985. A new medium for the enumeration and subculture of bacteria from potable water[J]. Appl Environ Microbiol, 49(1): 1-7.

SANTOYO G, OROZCO-MOSQUEDA MDC, GOVINDAPPA M, 2012. Mechanisms of biocontrol and plant growth-promoting activity in soil bacterial species of Bacillus and Pseudomonas: a review[J]. Biocontrol Sci Technol, 22(8): 855-872.

SCHLAEPPI K, BENDER SF, MASCHER F, et al., 2016. High-resolution community profiling of arbuscular mycorrhizal fungi[J]. New Phytol, 212(3): 780-791.

SIDDIKEE MA, CHAUHAN PS, ANANDHAM R, et al., 2010. Isolation, characterization, and use for plant growth promotion under salt stress, of ACC deaminase-producing halotolerant bacteria derived from coastal soil[J]. J Microbiol Biotechnology, 20(11): 1577-1584.

SORTY AM, SHAIKH NR, 2015. Novel co-enrichment method for isolation of magnetotactic bacteria[J]. J Basic Microb, 55(4): 520-526.

WANG C, WEI M, WU B, et al., 2019. Alpine grassland degradation reduced plant species diversity and stability of plant communities in the Northern Tibet Plateau[J]. Acta Oecol, 98(2019): 25–29.

WANG Y, YANG C, YAO Y, et al., 2016. The diversity and potential function of endophytic bacteria isolated from *Kobreasia capillifolia* at alpine grasslands on the Tibetan Plateau, China[J]. J Integr Agr, 15(9): 2153-2162.

WEYENS N, LELIE DVD, TAGHAVI S, et al., 2009. Phytoremediation: plant-endophyte partnerships take the challenge[J]. Curr Opin Biotechnol, 20(2): 248-254.

YOAV B, BERNARDO S, ESTHER PM, 2009. Responses of native legume desert trees used for reforestation in the Sonoran Desert to plant growth-promoting microorganisms in screen house[J]. Biol Fert Soils, 45(6): 655-662.